

THESIS

BONN 1969

Aus der Universitäts-Hautklinik Bonn
Direktor: Professor Dr. A. Leinbrock

Elektrophoretische Untersuchungen an Proteinen der Bauchhaut hinsichtlich Alters- und Geschlechtsabhängigkeit

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von
Magdalene Bonstedt
aus Königsberg

Bonn 1969



Digitized by the Internet Archive
in 2026

ELEKTROPHORETISCHE UNTERSUCHUNGEN AN PROTEINEN DER
BAUCHHAUT HINSICHTLICH ALTERS- UND GESCHLECHTSABHÄNGIGKEIT

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
Bonn

vorgelegt
von
Magdalene Bonstedt
aus
Königsberg

Bonn 1969

Angefertigt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Bonn

Referent: Prof. Dr. med. A. Leinbrock

Korreferent: ----

Tag der mündlichen Prüfung: 30. Juli 1969

Aus der Universitäts-Hautklinik Bonn

Direktor: Prof. Dr. med. A. Leinbrock

I n h a l t

	<u>Seite</u>
Material und Methode	4
Celluloseacetat-Elektrophorese	5
Stärkegel-Elektrophorese	6
Ergebnisse	9
Celluloseacetat-Elektrophorese	9
Stärkegel-Elektrophorese	20
Diskussion	24
Zusammenfassung	27
Literaturverzeichnis	28

Von LEINBROCK (1951, 1956, 1957, 1961) wurde die Beziehung der Serumeiweiße zu den einzelnen Hautkrankheiten untersucht. Er befaßte sich auch bereits mit den Eiweißkörpern der Haut selbst (1961). In der vorliegenden Arbeit wurden die gesamten Proteine der menschlichen Haut nach der Methode von RODERMUND, FASOLD, TURBA und LEINBROCK fraktioniert und ihre elektrophoretische Darstellung versucht. Dabei sollte geprüft werden, ob sich mit diesem Untersuchungsverfahren Alters- und Geschlechtsunterschiede nachweisen lassen.

Material und Methode

Leichenhaut aus der Bauchregion unterhalb des Nabels wurde sorgfältig von Fett freipräpariert und von Haaren befreit. 3-5 g dieser Haut wurden mit Kohlensäureschnee eingefroren, mit dem Messer fein zerkleinert und mit 50 ml 0,1 m Ammoniumacetatpuffer vom pH 7 unter Zusatz von Trockeneis 5 Min. lang homogenisiert (Ultra-Turrax, Fa. Janke & Kunkel).

Anschließend wurde die Mischung in der Vibrogen-Zellmühle (Fa. Bühler, Tübingen), die zu zwei Dritteln mit Glasperlen ($D = 0,5 \text{ mm}$) gefüllt war, 5 Min. geschüttelt und zur weiteren Extraktion bei $+4^\circ \text{C}$ kalt gestellt. Nach 24 Std. wurde 30 Min. bei 3000 UpM zentrifugiert (Kühlzentrifuge MSE Mistral 2L, England) und der Überstand filtriert. Das Sediment wurde mit 50 ml 0,1 m Ammoniumacetatpuffer aufgefüllt, in der Vibrogen-Zellmühle 5 Min. geschüttelt und 24 Std. bei $+4^\circ \text{C}$ nachextrahiert. Nach dem Zentrifugieren ergaben die vereinigten, filtrierten Überstände die Fraktion I, die vor der Weiterverarbeitung noch durch Ultrafiltration (Metalldruckfiltrationsgerät Modell MD 50-15, Filter LSG 60, Membranfiltergesellschaft Göttingen) auf ein Fünftel des ursprünglichen Volumens eingeeengt wurde. Das Sediment wurde auf der Nutsche mit 500 ml destilliertem Wasser ausgewaschen und mit 50 ml 1m Essigsäure nach dem oben beschriebenen Verfahren extrahiert, 15 Min. bei 2000 UpM zentrifugiert und mit dem gleichen Volumen Essigsäure nachextrahiert. Die vereinigten, filtrierten Überstände bildeten Fraktion II. Wieder wurde der Bodensatz ausgiebig genutscht, mit

50 ml 0,1m Natriumboratpuffer vom pH 8 und von 6 molarem Harnstoffgehalt aufgefüllt und in der genannten Weise zweimal extrahiert. Die vereinigten Überstände nach halbstündigem Zentrifugieren bei 3000 UpM und Filtration bildeten Fraktion III. Mit dem gleichen Puffer unter Zusatz von 250 mg Natriumborhydrid am ersten und 500 mg Natriumborhydrid am zweiten Tag wurde Fraktion IV dargestellt. Die Fraktionen II-IV wurden gegen n/1000 Essigsäure, Fraktion I gegen destilliertes Wasser ausgiebig dialysiert und lyophilisiert. Wegen der geringen Eiweißausbeuten in Fraktion II und III wurde meist die doppelte Menge Haut in zwei Portionen aufgearbeitet.

Celluloseacetat-Elektrophorese:

Die Weiteruntersuchung der vier Fraktionen auf Celluloseacetatfolien nach KOHN (Membranfolien 20 x 150 mm, Sartorius-Membranfiltergesellschaft, Göttingen) erfolgte im LKB-PapierELEKTROPHORESEAPPARAT (LKB Produkter AB, Stockholm). Als Spannungsquelle diente der Model RD-2 Duostat (Beckman Instruments Inc., Fullerton, Kalifornien).

Die in der Kammer vorbereiteten Folien wurden mittels einer geeichten Mikropipette mit 10 µl einer 2%igen Eiweißlösung, also mit 0,2 mg Eiweiß, beschickt. Für die Glykoproteidfärbung war die vierfache Menge nötig. Zur Herstellung der Lösungen wurden 2 mg Eiweiß in 0,1 ml des jeweiligen Puffers bzw. bei Fraktion II und III in 0,1 ml 1molarer Essigsäure gelöst. Bei den schwer löslichen Fraktionen II-IV wurden einige Körnchen Harnstoff zugesetzt. Die Elektrophorese dauerte 100 Min. bei konstanter Spannung von 350 V; dabei lag die Stromstärke gewöhnlich zwischen 4 und 8 mA. Nach halbstündigem Erhitzen im Trockenschrank bei 100 Grad C folgten 5 Min. Färben in gesättigter Amidoschwarzlösung (7 g Amidoschwarz 10 B in 500 ml Methanol + 400 ml Aqua dest. + 100 ml Eisessig) und der Entfärbevorgang in einer Bäderreihe der Farbstofffreien Lösung. (KOHN, 1957).

Zur Darstellung der Glykoproteide wurden die hierfür vorgesehenen Streifen zuerst 10 Min. in Alkohol, dann 10 Min. in Perjodsäure (2,5 g Perjodsäure, 50 ml 0,5 m Natriumacetat, Aqua dest. ad 500) gelegt, mit n/1000 HCL gespült und bis zur Braunfärbung einem re-

duzierenden 10%igen Jodkalibad ausgesetzt, dem vor Gebrauch 2,5 ml 0,1 n HCl zugefügt wurden. Nach tropfenweiser Zugabe von gesättigter Ammoniumthiosulfatlösung bis zur Entfärbung der Folien und Abspülen in n/1000 HCl folgten 30 Min. Färben in Schiffischem Reagenz. Als Entfärber diente Methanol-Eisessig 9 : 1 (KOH 1964). Die entfärbten Folien wurden auf Objektträger aufgezogen, durch Besprühen mit Eisessig transparent gemacht und 10 Min. bei 100 Grad C im Trockenschrank getrocknet. Ausgewertet wurden die Pherogramme im Extinktionsschreiber 3 mit Integralschreiber der Fa. Zeiss. Für die mit Amidoschwarz gefärbten Präparate wurde das Auswertgerät mit dem Filter FE 60 versehen, für die Glykoproteidfärbung mit dem Filter FE 53.

Folgende Puffer wurden bei den Versuchen verwendet:

- 0,05 m Michaelispuffer, pH 8,2;
- 0,1 m Trispuffer, pH 8;
- 0,1 m Trispuffer mit 6 m Harnstoff;
- 0,1 m Natriumcitratpuffer, pH 2,5;
- 0,1 m Natriumcitratpuffer mit 3 m Harnstoff;
- 0,1 m Natriumcitratpuffer mit 6 m Harnstoff.

Stärkegelelektrophorese:

Die elektrophoretische Trennung erfolgte in der Duplexkammer nach SMITHIES (Shandon Labortechnik, Frankfurt) unter Verwendung von Gelen aus hydrolysierte Kartoffelstärke (Fa. Serva, Heidelberg) und verschiedenen Puffern.

Technik:

Zur Herstellung des Gels wurde die benötigte Menge Stärke (s.u.) mit 500 ml des jeweiligen Puffers in einem Porzellengefäß verrührt, und die Suspension unter ständigem Rühren langsam erhitzt, aber nicht zum Kochen gebracht. Die Viskosität erreichte dabei ein Maximum, um dann plötzlich wieder abzunehmen. Zu diesem Zeitpunkt wurde das Gel in eine genügend große, vorgewärmte Druckflasche aus Jenaer Glas gefüllt und im Wasserbad von 70 - 80 Grad C durch Anlegen eines Sogs entgast, bis keine großen Gasblasen mehr aufstiegen. Sofort wurde das heiße Gel in die vorher paraffinier-

te Gelkammer gegossen, der ebenfalls sorgfältig paraffinierte Deckel mit dem Kamm zur Bildung von Schlitzzen für die Eiweißproben vorsichtig unter Vermeidung des Einschlusses von Luftblasen gesenkt und an den Schmalseiten bis zum Erkalten des Gels mit je 2 kg beschwert. Vor der Verwendung des Gels wurden die Platten an den Stirnseiten der Kammer entfernt, der Deckel vorsichtig abgehoben, und die gelösten Eiweißproben in die Schlitzze pipettiert. Da aus Gründen der Löslichkeit die Konzentration der Eiweißlösungen begrenzt war, im Vergleich zum Serum jedoch etwa die doppelte Eiweißmenge benötigt wurde, mußten die Schlitzze verbreitert werden, was sich durch Einspannen von zwei gleichen Kämmen in den Deckel erreichen ließ. Dadurch faßte jeder Schlitz 0,1 ml. Die eingefüllten Proben wurden mit einem Streifen dünner Plastikfolie und dann das ganze Gel mit einem Plexiglasdeckel abgedeckt.

In der Elektrophoresekammer wurde das Gel auf mehreren Lagen Filterpapier so aufgestellt, daß die Wanderung von oben nach unten erfolgte. Dabei mußten selbstverständlich die bei den verschiedenen Puffern unterschiedlichen Wanderungsrichtungen für die Polung berücksichtigt werden. Die Verbindung zur oberen Pufferwanne und zwischen Elektroden- und Pufferwannen stellten Brücken aus puffergetränktem Filterpapier her. Die Trennung fand in der Kühlzelle bei +4 Grad C statt. Danach wurde das Gel auf eine genau in die Gelkammer passende Glasplatte von 3 mm Dicke gestürzt und auf der Glasplatte liegend wieder in die Gelkammer gebracht, so daß das 6 mm dicke Gel diese jetzt um 3 mm überragte. Ein dünner, straff gespannter Stahldraht, der über die oberen Ränder der Gelkammer geführt wurde, teilte das Gel glatt in zwei Hälften von je 3 mm Dicke. Die Schnittfläche wurde in gesättigter Amidoschwarzlösung (Amidoschwarz 10B in Methanol-Wasser-Eisessig 5 : 4 : 1) 20 Min. gefärbt und in der Farbstoff-freien Lösung innerhalb von zwei bis drei Tagen entfärbt. Um den sonst enormen Verbrauch an Entfärber einzuschränken, wurde er wiederholt mittels Aktivkohle regeneriert und weiterverwendet. Bei Fraktion II-IV mußte die geeignete Entfärbezeit sorgfältig eingehalten werden, da bei ihrer Überschreitung die gefärbten Banden innerhalb von Stunden verblaßten.

Versuchsbedingungen:

Die Standardpuffer nach SMITHIES (Gelpuffer: 0,025 m Borsäure, 0,01 m NaOH, pH 8,5; Elektrodenpuffer: 0,3 m Borsäure 0,06 m NaOH, pH 8,45 - 8,5) wurden versucht, ferner in leichter Abwandlung dieses Verfahrens der genannte Natriumborat-Elektrodenpuffer nach SMITHIES, als Gelpuffer 1:10 verdünnt, weiterhin 0,1 m Glycin-NaCl-Puffer vom pH 8, als Gelpuffer in zehnfacher Verdünnung, und schließlich 0,1 m Natriumcitratpuffer, pH 2,5, als Gelpuffer 0,01-molar; er wurde ohne, mit 3 m und mit 6 m Harnstoff in allen sich dabei ergebenden Kombinationen zwischen Gel- und Elektrodenpuffer geprüft.

Es wurden Stärkekonzentrationen von 9,8 - 15 % Stärke verwendet, wobei mit steigendem Harnstoffgehalt des Gels höhere Konzentrationen nötig waren, um eine geeignete Konsistenz zu erzielen. Die Trennzeiten wurden von 12 - 23 Stunden, die Spannung von 100 - 200 V variiert. Die Stromstärke nahm im Verlauf des Versuchs zu und lag meist zwischen 20 und 30 mA. Bei Fraktion IV wurden höhere Werte bis 50 mA erreicht. Als Spannungsquelle diente wieder der Model RD-2-Duostat (Beckman).

Folgende Versuchsbedingungen erwiesen sich als optimal für die einzelnen Fraktionen:

Fraktion I:

als Elektrodenpuffer Natriumboratpuffer, pH 8,5, nach SMITHIES, als Gelpuffer der gleiche Puffer 1:10 verdünnt;

11 % Stärke;

0,1 ml 4%iger Eiweißlösung = 4 mg Eiweiß;

Laufzeit 18 Stunden bei 135 V.

Fraktion II und III:

als Elektrodenpuffer 0,1 m Natriumcitratpuffer, pH 2,5;

als Gelpuffer der gleiche Puffer 0,01 molar und mit 3molarem Harnstoffgehalt;

13,5 % Stärke;

0,1 ml 4%iger Eiweißlösung = 4 mg Eiweiß;

Laufzeit 21 Stunden bei 200 V.

Fraktion IV:

als Elektrodenpuffer 0,1 m Natriumcitratpuffer, pH 2,5;
 als Gelpuffer der gleiche Puffer 1:10 verdünnt und 6 m Harnstoff
 enthaltend;
 15 % Stärke;
 0, 1 ml 8-10%iger Eiweißlösung = 8-10 mg Eiweiß;
 Laufzeit 21 Stunden bei 200 V.

Ergebnisse

Zur Untersuchung gelangte insgesamt Haut von 69 Menschen, davon 54 männlich und 15 weiblich. Drei Altersgruppen wurden unterschieden und innerhalb dieser Gruppen die beiden Geschlechter getrennt betrachtet.

Erste Gruppe: 0- 5 Jahre
 zweite Gruppe: 6-59 Jahre
 dritte Gruppe: 60-84 Jahre.

In der ersten Gruppe stand Haut von 5 Männern und 6 Frauen zur Verfügung, in der zweiten Gruppe Haut von 17 Männern und 4 Frauen, in der dritten Gruppe Haut von 32 Männern und 5 Frauen.

Nicht immer war die Eiweißausbeute in den einzelnen Fraktionen groß genug für die Anwendung beider Elektrophoreseverfahren oder Versuche mit mehreren Puffern.

Celluloseacetat-Elektrophorese:

Von Fraktion I wurden nach dieser Methode 45 Häute untersucht, davon 32 männlich und 13 weiblich.

Die besten Resultate lieferte 0,05 m Michaelispuffer. Bei anodischer Wanderungsrichtung ergaben sich elfmal zwei, vierzehnmal drei, zwölfmal vier und achtmal fünf Banden (s. Kurvenbeispiel Abb. 1, Maßstab 1:2). Sie wurden entsprechend den Serum-eiweißfraktionen benannt. Die Zahl der Banden zeigte keine Altersabhängigkeit, lag jedoch beim männlichen Geschlecht durchschnittlich etwas niedriger als beim weiblichen.

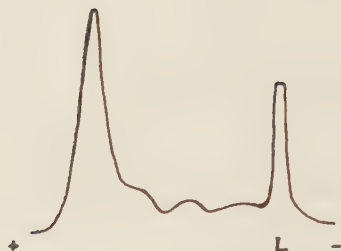


Abb. 1: Fraktion I (σ^2 , 29 J.), Michaelispuffer

Bei der photometrischen Auswertung wurde der an der Auftragsstelle liegende gebliebene Proteinanteil (L) in Prozent der insgesamt gemessenen Eiweißmenge angegeben, während die prozentuale Aufschlüsselung der gewanderten Eiweißfraktionen unabhängig davon erfolgte. Das gilt auch für die Fraktionen II - IV.

Für Fraktion I sind die Mittelwerte in Tabelle 1 zusammengestellt. Die eingeklammerten Zahlen sind das Ergebnis einer zweiten Mittelwertberechnung, bei der innerhalb einer Gruppe nur Präparate mit gleicher Zahl von Banden berücksichtigt wurden. Denn verschieden starke Fraktionierung bedingt natürlich Unterschiede in der prozentualen Verteilung, die mit dem Alter oder Geschlecht gar nichts zu tun haben. Obgleich auf diese Weise eine mögliche Fehlerquelle ausgeschaltet wurde, ist die Streubreite der Einzelwerte zu groß, um aus den Differenzen der Mittelwerte Schlüsse zu ziehen. Beim Vergleich der in Klammern stehenden Zahlen mit den Mittelwerten des Gesamtmaterials findet man bei den Albuminen die beste Übereinstimmung. Offenbar beruhen also Unterschiede in der Zahl von Banden auf verschieden starker Fraktionierung der Globuline, während das Albumin sich als einheitliche Fraktion darstellt. Dadurch wird die Richtigkeit der vom Serum übernommenen Benennung der einzelnen Banden bestätigt.

Bei der Glykoproteidfärbung der in Michaelispuffer gewanderten

		Alb.	α_1	α_2	B	γ	L
Gruppe	1 ♂	80,7	1,3	1,7	1,7	14,6	18,0
		(79,5)				(20,5)	
	♀	61,8	7,2	1,0	6,8	23,2	30,0
		(65,5)	(8,0)		(11,0)	(15,5)	
	2 ♂	74,5	7,5	0,9	3,3	13,8	23,4
		(79,2)	(7,5)		(6,7)	(6,5)	
	♀	56,2	9,7	2,0	10,2	21,7	23,2
		(45,5)	(12,0)		(17,5)	(25,0)	
	3 ♂	73,5	6,7	1,0	3,4	15,4	27,0
		(75,1)	(11,6)			(13,3)	
	♀	70,7	8,7	3,0	11,0	8,2	22,5
		(70,0)	(14,0)		(9,0)	(7,0)	
Glykoproteide	1 ♂	47,0	12,6			40,3	24,3
		48,3	4,5			47,3	48,7
	2 ♂	31,6	16,2			52,2	30,0
		11,0	31,3	8,7	18,3	30,7	47,3
	3 ♂	30,0	19,8		3,4	44,5	44,5
		35,7	16,0			48,2	41,0

Tabelle 1:

Fraktion I, Mittelwerte

Legende siehe Textteil

Fraktion I stellten sich meist zwei oder drei, in einigen Fällen auch vier oder fünf Banden dar. Auch hier differieren die Werte stark, doch liegen übereinstimmend die Albumine niedriger und die Globuline höher als bei der Proteinfärbung. Das geht auch aus den Mittelwerten (Tabelle 1) hervor. Hinsichtlich Alters- oder Geschlechtsabhängigkeit zeigen sie jedoch ebenfalls kein charakteristisches Verhalten.

Versuche mit Citrat- und Trispuffer, jeweils mit und ohne Harnstoff, ergaben bei Fraktion I eine geringere Zahl meist unscharfer und verformter Banden. In Citratpuffer war die Wanderung kathodisch. Harnstoffzusatz bewirkte, wie auch bei den andern Fraktionen, eine Verlängerung der Trennstrecke.

Fraktion II wurde bei 44 Häuten, davon 33 männlich, 11 weiblich, untersucht. Zur Auftrennung bewährte sich 0,1 m Citratpuffer mit 3 m Harnstoff am besten. Er ergab bei kathodischer Wanderung gewöhnlich eine deutliche Bande, der meist eine hellere Bande vorgelagert war und oft noch eine ebenfalls blasse, weniger weit gewanderte Bande folgte (s. Kurvenbeispiel Abb. 2)

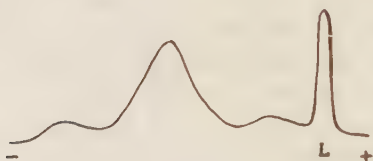


Abb. 2: Fraktion II (♂, 55 J.), Citratpuffer + 3 m Urea

Die drei Banden wurden für die tabellarische Einordnung A, B und C genannt, wobei A die am weitesten gewanderte Fraktion bezeichnet. Einige Präparate zeigten von A oder B abgrenzbare, diesen vorgelagerte Banden, die A_1 bzw. B_1 genannt wurden.

In Tabelle 2 sind die Mittelwerte zusammengestellt. Wie bei Fraktion I geben die eingeklammerten Zahlen Mittelwerte wieder, für deren Berechnung nur die vergleichbaren Präparate mit gleicher Zahl von Banden zugrunde gelegt wurden. Beide Berechnungsweisen ergeben, sowohl beim männlichen als auch beim weiblichen Geschlecht, einen mit steigendem Alter abnehmenden Prozentanteil der als B bezeichneten Fraktion. Doch zwingt die Variationsbreite der Einzelmessungen auch bei dieser Aussage zu Vorbehalten. In Gruppe 1 ist bei beiden Geschlechtern der Mittelwert des liegengebliebenen Proteinanteils niedriger als in den andern Gruppen, was eine bessere Löslichkeit des lyophilisierten Eiweiß in dieser Altersstufe vermuten läßt. Allerdings waren solche Befunde nach Darstellung der Glykoproteide und in den anderen Fraktionen nicht zu erheben. Bei der Glykoproteidfarbung stellten sich außer dem liegengebliebenen Eiweiß eine bis drei Banden dar. Ihre Verteilung ist ähnlich wie bei der Proteinfärbung.

Versuche mit Citratpuffer ohne Harnstoff ergaben eine sehr kurze Trennstrecke, bei Zusatz von 6 m Harnstoff unscharfe Banden und eine für die photometrische Auswertung zu lange Trennstrecke. Auch in Trispuffer mit und ohne Harnstoff und in Michaelispuffer erfolgte kathodische Wanderung, doch waren die Banden meist stark gebogen, zum Teil auch unterbrochen. Nur Trispuffer mit 6 m Urea lieferte verwertbare Präparate. Dabei stellte sich meist eine kräftig gefärbte Bande und dahinter ein breiter, schwach gefärbter Streifen dar. Alters- oder geschlechtsabhängige Unterschiede in der prozentualen Verteilung ließen sich nicht feststellen.

Bei 34 Häuten, davon 25 männlich und 9 weiblich, wurde Fraktion III untersucht. Wegen der geringen Ausbeute bei dieser Fraktion waren Versuche mit mehreren Puffern beim selben Eiweiß meist nicht möglich. Dadurch ist die Zahl vergleichbarer Ergebnisse hier sehr viel niedriger als bei den andern Fraktionen. Die Angabe von Mittelwerten erschien daher nicht sinnvoll, zumal selbst die unter gleichen Bedingungen gewonnenen Resultate so unterschiedlich waren, daß schon die tabellarische Einordnung Schwierigkeiten machte. Deshalb soll hier ohne Berücksichtigung des Alters und Geschlechts nur das Verhalten in den verschiedenen Puffern beschrie-

		A ₁	A	B ₁	B	C	L
Gruppe	1 ♂		6,8		89,2 (90,0)	4,0 (10,0)	12,8
	♀	0,5	2,7		90,0 (91,0)	6,7 (9,0)	23,5
	2 ♂		10,0 (15,2)		79,0 (72,5)	11,0 (12,2)	39,7
	♀		12,0 (14,3)		76,5 (70,3)	11,5 (15,3)	27,2
	3 ♂	1,5	10,0 (12,6)	1,3	71,2 (72,5)	16,0 (14,9)	28,4
	♀	4,3 (3,0)	7,3 (12,0)	7,0	65,3 (64,0)	16,0 (21,0)	34,6
Glykoproteide	1 ♂				100,0		65,5
	♀		7,5		92,5		60,0
	2 ♂				75,7	24,3	37,0
	♀		7,0		78,0	15,0	53,3
	3 ♂		9,9		72,7	17,4	56,2
	♀				86,0	14,0	48,0

Tabelle 2:

Fraktion II, Mittelwerte

ben werden. Die besten Ergebnisse lieferte wieder Citratpuffer mit 3molarem Harnstoffgehalt (s. Kurvenbeispiel Abb. 3)



Abb. 3: Fraktion III (σ , 52 J.) Citratpuffer + 3 m Urea

Bei kathodischer Wanderungsrichtung stellten sich eine bis drei Banden dar. Ähnlich wie bei Fraktion II war von drei Banden meist die mittlere die stärkste.

Auch in Michaelispuffer erfolgte im allgemeinen kathodische Wanderung, wobei sich meist nur eine, gelegentlich aber auch zwei oder drei Banden fanden. Seltsamerweise ergab sich in einigen Fällen zusätzlich oder ausschließlich anodische Wanderung. Das gleiche war vereinzelt auch bei Citratpuffer ohne Harnstoff und bei Trispuffer zu beobachten. Im übrigen war auch in diesen Puffern die Wanderung kathodisch.

Einordnungsschwierigkeiten traten auch bei Fraktion IV auf. Sie wurde bei 49 Häuten, davon 37 männlich und 12 weiblich, untersucht. In Michaelispuffer erfolgte in fast allen Fällen sowohl anodische wie kathodische Wanderung, wobei aber im allgemeinen Trennstrecke und Zahl der Banden auf der Anodenseite größer waren (s. Kurvenbeispiel Abb. 4). Am häufigsten fanden sich zwei Banden in anodischer und eine in kathodischer Richtung, doch kamen auch die verschiedensten andern Kombinationen mit bis zu drei Banden auf jeder Seite vor. Deshalb wurde auf eine Benennung der Fraktionen verzichtet und ihre tabellarische Einordnung nur nach

		+ ← L → -						
Glykoproteide	Gruppe 1	♂	13,5	33,7	37,0	58,7	15,7	
		♀	1,7	19,0	50,7	54,7	28,5	
	2	♂		26,6	43,1	35,9	26,6	3,7
		♀		15,3	69,0	53,0	15,7	
	3	♂	5,0	29,7	44,5	47,1	18,5	1,6
		♀	4,2	37,4	45,4	51,8	11,6	0,5
	1	♂		6,7	63,5	68,0	26,5	3,5
		♀		3,3	43,3	51,3	53,3	
	2	♂		9,0	41,4	57,4	41,6	8,0
		♀		24,0	56,0	57,3	20,0	
	3	♂	2,0	16,0	51,8	60,4	28,7	1,3
		♀		13,0	42,5	61,0	44,5	

Tabelle 3:

Fraktion IV, Mittelwerte

der räumlichen Beziehung zur Auftragsstelle vorgenommen. Die Mittelwerte aus dieser Übersicht (Tabelle 3) lassen daher auch keine sicheren Schlüsse zu. Das gleiche gilt für die Glykoproteidfärbung (Tabelle 3), bei der sich sehr ähnliche Verhältnisse fanden.

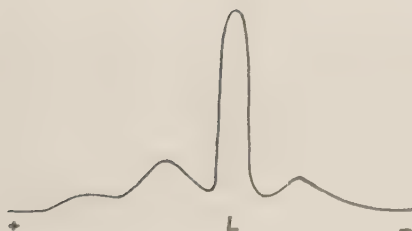


Abb. 4: Fraktion IV (σ , 55 J.), Michaelispuffer

In Citratpuffer ergab Fraktion IV bei anodischer Wanderung meist nur eine Bande; Harnstoffzusatz bewirkte Verlängerung der Trennstrecke und Unschärfe. Die Resultate in Trispuffer gleichen den in Michaelispuffer gewonnenen; auch hier bewirkte Harnstoff Abnahme der Schärfe.

Fehlerrechnung:

Die wiederholt erwähnte starke Streuung der einzelnen Versuchsergebnisse aller Fraktionen soll im folgenden durch eine Fehlerrechnung belegt werden. Um dabei zu kleine Zahlengruppen zu vermeiden, war eine neue Einteilung nötig. Das gesamte Material wurde zunächst ohne Berücksichtigung des Alters nur auf Geschlechtsunterschiede geprüft. Anschließend wurden sämtliche Versuchsergebnisse auf Altersabhängigkeit untersucht, ohne das Geschlecht zu berücksichtigen.

Folgende Formeln wurden verwendet:

$$\text{Streuung der Einzelwerte} = \sigma = \sqrt{\frac{\sum \Delta x^2}{n-1}}$$

$$\text{Streuung der Mittelwerte} = \bar{\sigma} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

Dabei bedeutet Δx die Abweichung des Einzelwertes x vom Mittelwert m ; n ist die Zahl der Einzelwerte in einer Meßreihe.

Fraktion I

	Albumin					
	α_1	α_2	β	γ	L	
Glyko-Proteide	σ 74,5 $\pm$ 10,0	6,4 $\pm$ 4,8	1,0 $\pm$ 1,7	2,9 $\pm$ 4,2	14,8 $\pm$ 6,6	25,0 $\pm$ 11,7
	φ 62,8 $\pm$ 15,5	8,5 $\pm$ 4,3	1,9 $\pm$ 3,1	8,6 $\pm$ 6,3	18,0 $\pm$ 12,3	25,6 $\pm$ 9,6
	σ 32,7 $\pm$ 15,5	18,0 $\pm$ 17,2		2,2 $\pm$ 4,0	45,7 $\pm$ 15,5	39,0 $\pm$ 14,4
	φ 33,5 $\pm$ 14,0	16,0 $\pm$ 15,2	2,4 $\pm$ 4,5	5,0 $\pm$ 7,6	43,0 $\pm$ 15,7	45,5 $\pm$ 14,1

Fraktion II

	A ₁	A	B ₁	B	C	L
σ	0,9 $\pm$ 1,6	9,5 $\pm$ 3,9	0,8 $\pm$ 1,5	66,7 $\pm$ 13,3	13,0 $\pm$ 5,4	28,5 $\pm$ 16,0
φ	1,4 $\pm$ 2,0	7,4 $\pm$ 6,0	1,9 $\pm$ 3,6	78,4 $\pm$ 16,2	11,0 $\pm$ 7,8	28,0 $\pm$ 9,8

Fraktion III

	+ ← L → -			
σ	28,7 $\pm$ 9,2	17,7 $\pm$ 19,6	68,5 $\pm$ 25,8	19,2 $\pm$ 13,7
φ	35,0 $\pm$ 20,2	20,7 $\pm$ 14,7	73,7 $\pm$ 15,1	5,5 $\pm$ 6,3

Fraktion IV

	+ ← L → -						
Glyko-Proteide	σ	5,0 $\pm$ 8,4	29,5 $\pm$ 19,0	43,6 $\pm$ 16,3	46,0 $\pm$ 13,4	19,8 $\pm$ 17,1	1,8 $\pm$ 3,0
	φ	2,3 $\pm$ 4,0	25,8 $\pm$ 16,2	53,0 $\pm$ 18,7	53,0 $\pm$ 12,6	18,2 $\pm$ 9,0	0,6 $\pm$ 1,1
	σ	1,4 $\pm$ 2,5	13,4 $\pm$ 13,7	40,5 $\pm$ 22,5	61,0 $\pm$ 11,7	30,7 $\pm$ 15,7	2,9 $\pm$ 4,7
	φ		13,5 $\pm$ 10,1	47,9 $\pm$ 13,1	56,0 $\pm$ 7,2	38,6 $\pm$ 16,5	

Tabelle 4:

Untersuchung der Geschlechtsabhängigkeit

Ergebnisse der Fehlerrechnung ($m \pm \sigma$)

Fraktion I

	Albumin	α_1	α_2	β	γ	L
Gr.						
1	68,8 $\pm$ 11,7	5,0 $\pm$ 3,4	1,2 $\pm$ 1,9	4,9 $\pm$ 5,2	20,0 $\pm$ 11,5	25,5 $\pm$ 5,1
2	69,3 $\pm$ 6,7	8,1 $\pm$ 3,6	1,2 $\pm$ 2,1	5,3 $\pm$ 4,7	16,0 $\pm$ 10,3	23,4 $\pm$ 15,0
3	73,0 $\pm$ 3,3	7,0 $\pm$ 5,5	1,3 $\pm$ 2,2	4,4 $\pm$ 5,8	14,2 $\pm$ 5,3	26,2 $\pm$ 5,7
Glykoproteide	1	47,7 $\pm$ 14,1	8,0 $\pm$ 12,3		44,3 $\pm$ 6,3	30,3 $\pm$ 14,9
	2	23,9 $\pm$ 10,5	21,9 $\pm$ 11,5	3,2 $\pm$ 6,0	44,1 $\pm$ 14,8	37,6 $\pm$ 20,8
	3	31,3 $\pm$ 13,6	19,0 $\pm$ 18,1		45,3 $\pm$ 18,7	43,7 $\pm$ 10,7

Fraktion II

	A ₁	A	B ₁	B	C	L
Gr.						
1	0,2 $\pm$ 0,4	5,0 $\pm$ 8,3		89,6 $\pm$ 7,4	5,2 $\pm$ 4,9	17,6 $\pm$ 7,1
2		10,7 $\pm$ 5,6		69,0 $\pm$ 11,0	11,2 $\pm$ 6,4	53,2 $\pm$ 30,9
3	1,9 $\pm$ 2,8	9,6 $\pm$ 5,4	2,0 $\pm$ 3,9	70,4 $\pm$ 14,4	16,0 $\pm$ 4,6	29,3 $\pm$ 5,5

Fraktion IV

	L					
Gr.						
1	7,6 $\pm$ 10,3	23,4 $\pm$ 7,9	43,9 $\pm$ 13,3	55,5 $\pm$ 9,9	22,1 $\pm$ 11,8	
2		23,2 $\pm$ 18,7	50,9 $\pm$ 17,5	41,0 $\pm$ 12,8	23,3 $\pm$ 19,7	2,6 $\pm$ 3,8
3	4,9 $\pm$ 8,2	33,0 $\pm$ 17,0	44,6 $\pm$ 17,3	47,9 $\pm$ 13,9	17,4 $\pm$ 13,6	1,4 $\pm$ 2,5
Glykoproteide	1		5,3 $\pm$ 8,1	56,3 $\pm$ 20,7	60,9 $\pm$ 14,3	37,9 $\pm$ 15,3
	2		14,6 $\pm$ 11,7	34,4 $\pm$ 24,0	57,4 $\pm$ 12,0	33,5 $\pm$ 21,7
	3	1,8 $\pm$ 3,2	15,7 $\pm$ 14,3	45,8 $\pm$ 19,8	60,5 $\pm$ 9,5	30,3 $\pm$ 14,1

Tabelle 5:

Untersuchung der Altersabhängigkeit

Ergebnisse der Fehlerrechnung ($m \pm \bar{\sigma}$)

Als Ergebnis wurden die Mittelwerte mit ihrer Streuung, also $m \pm \sigma$ angegeben. Nach den Regeln der Statistik sind zwei Mittelwerte signifikant verschieden, wenn sie sich um mindestens 3σ unterscheiden, wobei jeweils das größere σ zugrunde gelegt wird. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 und 5 zusammengestellt. Bei Fraktion III wurden durch die Unterteilung in drei Altersstufen die einzelnen Gruppen zu klein für die Berechnung. Hier war deshalb nur die Untersuchung der Geschlechtsabhängigkeit möglich. Wie bereits vermutet, zeigt der Vergleich der zusammengehörigen Werte, daß in keinem Fall ein signifikanter Unterschied besteht, selbst wenn man sich mit der 2σ -Grenze begnügt. Die bisher bei der Beurteilung der Befunde geübte Zurückhaltung hat sich damit als begründet erwiesen.

Ergebnisse der Stärkegel-Elektrophorese:

Wie bei Serum ergab die Stärkegel-Elektrophorese auch bei den Hauteiweißen eine stärkere Fraktionierung als die Elektrophorese auf Celluloseacetat-Folien. Die folgenden Resultate wurden mit den bereits beschriebenen Versuchsbedingungen für die einzelnen Fraktionen gewonnen.

Von 38 Häuten, davon 27 männlich und 11 weiblich, wurde Fraktion I untersucht. Dabei stellten sich 2 bis 6 Banden in anodischer Wanderungsrichtung dar (s. Abb. 5).



Abb. 5: Fraktion I (σ , 1/2 J.)

Im Gegensatz zur Celluloseacetat-Elektrophorese fanden sich hier in den ersten beiden Altersstufen mehr Banden beim männlichen als beim weiblichen Geschlecht (Mittelwerte s. Tabelle 6). Da jedoch die zahlenmäßig bei weitem stärkste Gruppe 3 keinen Geschlechtsunterschied zeigt, sind diese Differenzen wohl nur zufälliger Art.

	♂	♀
Gruppe 1	4	3,2
Gruppe 2	4,3	3,3
Gruppe 3	4	4

Tabelle 6: Fraktion I, Anzahl der Banden, Mittelwerte

Bei allen Präparaten war eine dunkle und breite, offenbar dem Serumalbumin entsprechende Bande vorhanden. Die übrige Verteilung wechselte, auch innerhalb der einzelnen Gruppen. In der Mehrzahl der Fälle war hinter dem Albumin eine schmalere, ebenfalls kräftig gefärbte Bande zu erkennen, der eine etwa in der Mitte der Trennstrecke gelegene hellere Bande folgte (s. Abb. 5). Zusätzlich stellten sich in der ersten Hälfte der Trennstrecke verschiedenen zahlreiche, meist blasse Banden unterschiedlicher Breite dar, deren Verteilung in den einzelnen Gruppen keine Gesetzmäßigkeiten erkennen ließ. Ein Präalbumin fand sich in Gruppe 2 häufig (in 5 von 9 Fällen), in Gruppe 3 gelegentlich (in 7 von 22 Fällen), während es in Gruppe 1 (7 Fälle) fehlte. Auch hier muß wieder auf die fehlende Einheitlichkeit der sonstigen Befunde hingewiesen werden, die keine sicheren Aussagen erlaubt.

Fraktion II wurde bei 39 Häuten, davon 32 männlich und 7 weiblich, untersucht. Meist waren drei, manchmal auch vier oder fünf nach vorne scharf begrenzte Banden in kathodischer Wanderungsrichtung zu erkennen (s. Abb. 6). Die vorderste dieser Banden war besonders deutlich und eignete sich deshalb als Bezugspunkt für den Vergleich der Präparate untereinander. Ihrem Aussehen nach entspricht sie der bei der Celluloseacetat-Elektrophorese als B bezeichneten Fraktion.

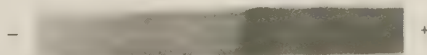


Abb. 6: Fraktion II (♂, 29 J.)

In den Gruppen 2 und 3 fanden sich außerdem weiter vorn in kathodischer Richtung eine bis vier ziemlich blasse Banden, am häufigsten in Gruppe 2 (in 11 von 13 Fällen). In Gruppe 1 fehlten diese vor B gelegenen Anteile dagegen. Ihre Verteilung auf die drei Altersstufen deckt sich also mit derjenigen des Präalbumins bei Fraktion I. Die mittlere Anzahl der Banden war in Gruppe 3 am größten (s. Tab. 7), weil hier in einigen Fällen zusätzlich anodische Wanderung auftrat.

	♂	♀
Gruppe 1	4,2	3,3
Gruppe 2	4,1	4
Gruppe 3	4,3	5

Tabelle 7: Fraktion II, mittlere Anzahl der Banden

Die genannten Altersmerkmale sind infolge der variablen Versuchsergebnisse unsicher. Charakteristische Geschlechtsunterschiede ließen sich nicht feststellen.

Nur bei vier männlichen und drei weiblichen Häuten war in Fraktion III genügend Eiweiß für die Stärkegel-Elektrophorese vorhanden. Bei den Versuchen stellten sich zwei oder vier Banden in kathodischer Wanderungsrichtung dar (s. Abb. 7). Zusätzlich kam es in jeder Altersgruppe einmal zu anodischer Wanderung.

Abb. 7: Fraktion III (♀, 7 Monate)

Bei Fraktion IV, die an 39 männlichen und 12 weiblichen Häuten untersucht wurde, fällt eine gewisse Ähnlichkeit mit Fraktion II auf. Bei rein kathodischer Wanderung traten außer drei bis sechs gut abgegrenzten Banden mit kurzer Trennstrecke häufig eine oder

mehrere weiter gewanderte, blasse und unscharfe Banden auf (Abb.8).



Abb. 8: Fraktion IV (σ , 79 J.)

Verteilung und Grad der Fraktionierung schwanken jedoch in weiten Grenzen. So variiert die Anzahl der Banden von 1 bis 9. Ihre Mittelwerte (Tabelle 8) besagen deshalb wenig. Auch sonst lassen sich keine alters- oder geschlechtsabhängigen Merkmale nachweisen.

	σ	η
Gruppe 1	3,5	3,4
Gruppe 2	3,8	4,3
Gruppe 3	3,1	2,6

Tabelle 8: Fraktion IV, mittlere Anzahl von Banden

Diskussion

In der Literatur finden sich neben zahlreichen morphologischen (EJIRI, NELKE, TELLER et al.) und funktionellen (JANSEN et al.) Studien über Altersveränderungen und Geschlechtsunterschiede der menschlichen Haut in den letzten Jahren auch zunehmend Berichte über biochemische Untersuchungen zur Differenzierung einzelner Hautbestandteile. Als Bindeglied zwischen überwiegend morphologisch und mehr biochemisch orientierter Betrachtungsweise lassen sich die Ausführungen BÜRGERS nennen. Er sieht die durch Protoplasmahysterese bedingte physiologische Wandlung der Biokolloide und Verdickungen der kapillaren Basalmembran als allgemeingültige Hauptursachen für die Alterung der verschiedenen Gewebe an.

In diesem Rahmen interessieren vor allem Untersuchungen über Proteine der Haut. Die Bedeutung des Eiweißstoffwechsels für die Dermatologie erkannte LEINBROCK, der mittels elektrophoretischer Methoden die Serum-eiweiße in ihrer Beziehung zu zahlreichen Hautkrankheiten untersuchte (1951, 1956, 1957, 1961) und damit der dermatologischen Diagnostik neue Wege eröffnete. In Untersuchungen über Gewebsproteine der Haut fand er in deren löslichen Anteilen deutliche Lokalisationsunterschiede (1961).

Im folgenden werden einige Untersuchungen über Hauteiweiße im allgemeinen, ohne Berücksichtigung von Alters- und Geschlechtsunterschieden, referiert. BADEN et al. isolierten im Rahmen von Untersuchungen zum epidermalen Eiweißstoffwechsel aus Homogenisaten von Hautstücken verschiedener Säugetiere und von menschlicher Haut mittels Agargel-Elektrophorese drei, mittels Immun-Elektrophorese vier verschiedene lösliche Eiweiße, ohne auf ihre biologische Bedeutung einzugehen. ZIMMER et al. wiesen mit Hilfe der Immun-Elektrophorese in der menschlichen Haut ähnliche Proteine nach wie im Blutserum. ROTHBERG stellte Versuche über den Eiweißstoffwechsel und die Proteinsynthese in den einzelnen Schichten der Haut an und fraktionierte dabei lösliches und in Alkali löslich gemachtes Hauteiweiß in neun Proteine. MATOLTSI et al. konnten bei papier-elektrophoretischen Untersuchungen nach sukzessiven Extraktionsversuchen mit 6 M Harnstoff und üblichen Eiweißlösungsmitteln in

der menschlichen Bauchhaut keine spezifische, mit Harnstoff extrahierbare Substanz nachweisen.

Die Altersabhängigkeit des Verhaltens von Elastin untersuchten BRAUN-FALCO et al.; sie fanden in der Haut von Kindern und Säuglingen einen hohen Elastingehalt, zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr eine Abnahme des Elastins und nach dem 40. Lebensjahr in steigender Menge ein Material, das sich nicht strukturmäßig, aber gegenüber der Hydrolyse mit NaOH wie Elastin verhielt.

BANFIELD berichtet über die Abnahme des essigsäurelöslichen Kollagens in der Bauchhaut zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr, während er zwischen dem 60. und 80. Lebensjahr einen Anstieg und danach wieder einen Abfall der Werte beobachtete. MORSE et al. untersuchten das Verhältnis von kollagenem und nicht kollagenem Eiweiß in der Haut und fanden statistisch auffällige topographische Unterschiede und bei steigendem Alter eine Zunahme des Verhältnisses von Kollagen zu nicht kollagenem Eiweiß, allerdings in verschiedenen Hautbezirken in unterschiedlichem Ausmaß.

Als Beispiel für Versuche zur Alterung anderer bindegewebiger Strukturen sei eine Arbeit von BENEKE et al. genannt, die menschliche Herzklappen in morphologischer und chemischer Hinsicht mit verschiedenen Methoden untersuchten und dabei deutliche Altersveränderungen fanden. Da die Herzklappen während des ganzen Lebens unter weitgehend konstanten Umgebungsbedingungen stehen, schließen die Autoren aus diesen Befunden, daß der Alterungsprozeß des Bindegewebes weniger von Umgebungsbedingungen abhängt, als vielmehr genetisch bedingt ist.

Da die genannten Literaturangaben sich auf Untersuchungen über bestimmte Bestandteile der Haut oder nur der Epidermis beziehen, während in den vorliegenden Versuchen die gesamten Eiweiße der ganzen Haut fraktioniert wurden, war eine Übereinstimmung der Ergebnisse nicht unbedingt zu erwarten. Die von mehreren Autoren beobachteten Alters- oder Geschlechtsveränderungen ließen sich mit der hier verwendeten Methode für die Gesamthaut nicht nachweisen, weil auch Häute gleichen Alters oder Geschlechts sich oft ganz unterschiedlich verhielten. Natürlich erhebt sich die Frage

nach der Ursache dieser großen Schwankungsbreite. Methodische Fehler sind unwahrscheinlich, da alle Häute nach dem gleichen, streng standardisierten Verfahren aufbereitet und untersucht wurden, und die angewandten Methoden sich bei Rattenhaut als aussagekräftig erwiesen haben (RODERMUND). Vielmehr werden als Ursache individuelle Faktoren vermutet. Möglicherweise spielen auch die verschiedenen Todesursachen eine Rolle, obgleich von vornherein alle Hautaffektionen und Krankheiten, die mit starken Serumeiweißverschiebungen einhergehen, ausgeschlossen worden waren.

Schon bei makroskopischen Vergleichen der verarbeiteten Hautstücke fielen beträchtliche Unterschiede in Farbe und Dicke auf; das Gewicht eines Quadratcentimeters als zusätzliches Maß für die Dicke variierte von 0,1 bis 0,4 g, und die Resistenz gegen mechanische Zerkleinerung war ebenfalls unterschiedlich; all diese Merkmale lieferten, außer bei der Haut Neugeborener und Kleinkinder, kaum Alters- und keinerlei Geschlechtshinweise.

Die Eiweißausbeute aus den einzelnen Häuten, bestimmt durch Auswiegen des lyophilisierten Eiweiß und Umrechnung auf Promille des Ausgangsgewichtes der verwendeten Haut, weist ebenfalls starke Schwankungen, jedoch keine Korrelation zu Alter oder Geschlecht auf.

Es ergibt sich also, daß mit der angewandten Untersuchungstechnik keine alters- oder geschlechtsabhängigen Unterschiede im Verhalten der Hauteiweiße nachzuweisen waren, da offensichtlich davon unabhängige individuelle Faktoren größere Differenzen verursachten.

Zusammenfassung

Nach der von RODERMUND et al. angegebenen Methode wurden die Eiweißkörper der menschlichen Bauchhaut vollständig fraktioniert und die einzelnen Fraktionen mittels Elektrophorese auf Celluloseacetatfolien nach KOHN und Stärkegelelektrophorese nach SMITHIES unter Verwendung verschiedener Puffer weiter untersucht. Charakteristische Alters- und Geschlechtsveränderungen ließen sich dabei nicht nachweisen.

Literaturverzeichnis

- BADEN, H.B. u. J.M. FREEDBERG Untersuchungen zum epidermalen Eiweißstoffwechsel.
Journ.Invest.Derm. 39, 5 (1962)
- BANFIELD, W.G. Age Changes in the Acetic Acid-Soluble Collagen in the Human Skin.
A.M.A. Arch.Path. 68, 680-684
(1959) zitiert nach: Zbl. Haut-, Geschlkr. 103, 185 (1960/61)
- BENEKE, G., W. SANDRITTER,
W. SCHMITT, R. KULKA Altersveränderungen menschlicher Herzklappen.
Med.Welt. 31, 1795-1802 (1967)
- BRAUN-FALCO, C. u. K. SALFELD Untersuchungen zum Wesen der senilen Elastose.
Dermat.Wschr. 135, 369-373 (1957)
- BÜRGER, M. Die chemische Biomorphose des menschlichen Herzklappenapparates unter Berücksichtigung des kalenderischen Alters und Geschlechts.
Zschr. Alternsforschung 17, 121-143 (1964)
- EJIRI, I. Studien über die Histologie der menschlichen Haut, besonders über das Wesen der Altersveränderungen der Haut.
Jap. Journ. Dermat. 39 (1936),
zit. nach: Zbl. Haut-, Geschlkr. 55, 428 (1937)
- JANSEN, ROTTIER Elasticity of Human Skin Related to Age.
Dermatologica 115, 106-111 (1957)

JANSEN, ROTTIER

Some Mechanical Properties of Human Abdominal Skin Measured on Excised Strips.

Dermatologica 117, 65-83 (1958)

-- --

Comparison of the Mechanical Properties of Strips of Human Abdominal Skin Excised from above and from below the Umbilic.

Dermatologica 117, 252-258 (1958)

KOHN, J.

Cellulose Acetate Supporting Medium for Zone Electrophoresis

Clin. Chim. Acta 2. 297 (1957)

--

Technik der Celluloseacetat-Elektrophorese.

Ärztl. Laborat, 8, 233-248 (1964)
und 9, 269-278 (1964)

LEINBROCK, A.

Veränderungen der elektrophoretischen Proteinspektren im Serum und in der Blasenflüssigkeit und Verhalten der Serumlabilitätsteste bei verschiedenen Pemphigusformen.

Arch. Dermat. Syph. 192, 535 (1951)

--

Epidermolysis bullosa dystrophica et albo-papuloidea (Pasini) et ulcerovegetans (cum Carcinoma) mit diffuser Hämangiomatose bei Schilddrüsen-Dysfunktion.

Hautarzt 7, 395-407 (1956)

--

Die Elektrophorese in der Dermatologie.

In: ANTWEILER, H.J.: Die quantitative Elektrophorese in der Medizin. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1957)

- LEINBROCK, A.
Elektrophorese.
In: GOTTRON, SCHÖNFELD: Hdb. Derm.
Venerol., Thieme Verlag, Stuttgart,
Bd. II, 471-490 (1961)
- MATOLTSI, A.G. und F. HERBST
Observations on Urea-Extractable
Substance of the Human Epidermis.
Journ. Invest. Derm. 27, 263-270
(1957)
- MORSCHES, B., H. HOLZMANN u.
G.W. KORTING
Untersuchungen zum quantitativen
Verhalten von Kollagen und nicht-
kollagenem Eiweiß in der menschli-
chen Haut in Abhängigkeit von Al-
ter und Lokalisation.
Arch. klin. exp. Derm. 224, 117-127
(1966)
- NELKE, A.
Die Altersveränderungen der mensch-
lichen Bauchhaut.
Inaug. Diss. Köln (1956)
- RODERMUND, O.-E., H. FASOLD,
F. TURBA u. A. LEINBROCK
Fraktionierung der gesamten Protei-
ne aus Rattenhaut und Charakteri-
sierung der einzelnen Anteile.
Arch. klin. exp. Derm. 226, 300-307
(1966)
- RODERMUND, O.-E.
Zur Wirkung von Röntgenstrahlen
auf Rattenhaut.
Arch. klin. exp. Derm. 231,
318-328 (1968)
- ROTHBERG, S.
The Synthesis of Epidermal Proteins.
I. Alkali-Solubilized (Insoluble)
Proteins.
II. Soluble Proteins.
Journ. Invest. Derm. 43, 151-164
(1964)

SMITHIES, O.

Zone Electrophoresis in Starch
Gels and its Application to Stu-
dies of Serum Proteins.
Adv, Prot. Chem. 14, 65 (1959)

--

An Improved Procedure for Starch
Gel Electrophoresis: Further Va-
riations in the Serum Proteins of
Normal Individuals.
The Biochem. Journ. 71, 585-587

TELLER, H., G. VESTER u.
L. POHL

Elektronenmikroskopische Unter-
suchungsergebnisse in der Inter-
cellularsubstanz des Coriums bei
Altersatrophie.
Dermat. Wschr. 135, 467-468
(1957)

ZILMER, J., M.-Th. SUTTER-DUB,
u. Fr. WÖRINGER

Nachweis von Fibrinogen bei der
Immunoelektrophorese des Derma.
Bull.Soc. Française Derm. Syph.
70, 238 (1963), zit. nach:
Derm. Wschr. 150, 513 (1964)

Für die Überlassung des Themas dieser Arbeit bin ich Herrn Prof. Dr. A. Leinbrock, Direktor der Universitäts-Hautklinik Bonn, zu Dank verpflichtet.

Herrn Dr. O.-E. Rodermund, wiss. Ass. an der Univ.-Hautklinik Bonn, gebührt besonderer Dank für Beratung und wertvolle Hinweise.

Auch Fräulein H. Hönig d'Orville sei an dieser Stelle für ihre freundliche Mitarbeit gedankt.

Ferner schulde ich Herrn Prof. Dr. H. Hamperl, derzeitiger Direktor des Pathologischen Instituts der Universität Bonn, Dank für die Überlassung der untersuchten Hautstücke.

Lebenslauf

Am 18. Mai 1943 wurde ich in Königsberg (Ostpr.) als Tochter des Angestellten Otto Bonstedt und seiner Ehefrau Ilse, geb. Kropp, geboren. Mein Vater ist seit 1945 in Rußland vermißt.

Nach der Flucht aus Königsberg wohnten wir in Gerstetten (Württemberg). 1949 übersiedelten wir nach Aachen. Dort besuchte ich von 1950 bis 1954 die Volksschule und anschließend ein neusprachliches Gymnasium, wo ich 1963 die Reifeprüfung ablegte. Danach studierte ich in Erlangen, Heidelberg und Bonn Medizin.

In Bonn bestand ich am 13.2.1969 das Medizinische Staatsexamen.

Aachen, im Mai 1969

